

THESIS

WÜRZBURG

1967

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

DIE BEEINFLUSSUNG DES KALIUMS UND DER ADENOSINTRI-  
PHOSPHORSÄURE IM BLUT DURCH  
KALIUM-MAGNESIUM-ASPARAGINAT

INAUGURAL - DISSERTATION

LANE MEDICAL LIBRARY  
STANFORD UNIVERSITY  
MEDICAL CENTER  
STANFORD, CALIF. 94305

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Horst Hagel  
aus Schwabach

Würzburg 1967



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA40153518\\_0216](https://archive.org/details/IA40153518_0216)

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. H. Franke

DIE BEEINFLUSSUNG DES KALIUMS UND DER ADENOSINTRI-  
PHOSPHORSÄURE IM BLUT DURCH  
KALIUM-MAGNESIUM-ASPARAGINAT

INAUGURAL - DISSERTATION

verfaßt und der  
Hohen Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
zur  
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Horst Hagel  
aus Schwabach

Würzburg 1967

Referent: Privatdozent Dr. med. W. Gross

Korreferent: Professor Dr. med. H. Franke

Tag der Promotion:

**21. 2. 68**

In Dankbarkeit  
meinen Eltern gewidmet

**Promotion 21. Feb. 1968**

# INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                           | Seite |
|---------------------------------------------------------------------------|-------|
| I.    Einleitung                                                          | 1     |
| II.   Allgemeines und Biochemie über die<br>Asparaginsäure und ihre Salze | 6     |
| III.   Methodik                                                           | 9     |
| IV.   Schilderung der Untersuchungsmethoden                               | 9     |
| 1. Bestimmung der Elektrolyte                                             | 10    |
| a) Herstellung der Eichlösungen                                           | 10    |
| b) Bestimmung der Elektrolyte<br>im Serum und Vollblut                    | 11    |
| c) Hämatokritbestimmung                                                   | 12    |
| d) Berechnung des Elektrolytgehaltes<br>der Erythrozyten                  | 12    |
| 2. Bestimmung der ATP                                                     | 12    |
| a) Herstellung der Lösungen                                               | 13    |
| b) Arbeitsweise                                                           | 14    |
| c) Störungen                                                              | 15    |
| V.    Ansätze des Untersuchungsmaterials                                  | 16    |
| VI.   Ergebnisse                                                          | 17    |
| 1. Befunde am Konservenblut                                               | 17    |
| 2. Befunde des Blutes der Versuchs-<br>personen ohne Glukosezusatz        | 22    |
| 3. Befunde des Blutes der Versuchs-<br>personen mit Glukosezusatz         | 25    |
| VII.   Diskussion                                                         | 27    |
| VIII.   Zusammenfassung                                                   | 42    |
| IX.    Literaturverzeichnis                                               | I     |



## I. EINLEITUNG

Mit der Entwicklung der Biochemie und ihrer Anwendung auf alle Gebiete der Medizin ist die herkömmliche Betrachtungsweise organ - pathologischer Veränderungen einer mikromolekularen Erfassung und Erforschung intrazellulärer Substratumsetzungen und Stoffwechselveränderungen gewichen. Dabei spielen Enzym- und Elektrolytprobleme eine wesentliche Rolle. Das therapeutische Bemühen versucht durch Beeinflussung pathologisch veränderter Stoffwechselvorgänge eine Regulierung und Normalisierung der intrazellulären Substratumsetzungen zu erreichen und damit eine Besserung der regressiven Vorgänge oder gar eine Heilung des Patienten herbeizuführen. Eine restitutio ad integrum ist natürlich nur dann möglich, wenn noch keine irreversiblen organ-pathologischen Veränderungen vorliegen.

In den letzten Jahren sieht sich der praktisch tätige Arzt mehr denn je geriatrischen Problemen gegenübergestellt. Wenn auch dank der fortschrittlichen medizinischen Erkenntnisse die Altersgrenze eines Menschen und damit seine Lebenserwartung heraufgesetzt werden konnte, so bleibt doch das physiologische Altern und damit das Auftreten bestimmter Beschwerde-Syndrome nicht aus. Obwohl der Begriff "Altersherz" bis heute kaum Eingang in die Lehrbücher gefunden hat, so ist er doch im Sprachgebrauch des Klinikers und auch des Gerontologen zu einer feststehenden Bezeichnung geworden, die mit einer bestimmten klinischen Symptomatologie verbunden ist. Wenn gleich das Altersherz im Sinne von BÜRGER nicht als wirklich krank zu bezeichnen ist, so handelt es sich dabei doch um eine latente physiologische, senile, relative Herzinsuffizienz.

Kaliumverlust und Natriumaufnahme spielen bei der Alterung der Zelle eine große Rolle. Hierbei kommt es zum Austritt des Kaliums aus den Erythrozyten und zur Natriumaufnahme, so daß sich die Konzentrationsdifferenzen der Ionen ausgleichen. Durch das Phänomen des aktiven Transportes wird Kalium gegen das Konzentrationsgefälle in der Zelle, Natrium in der Außenflüssigkeit angereichert. Feststellungen, daß das akute Geschehen von den verschiedensten Stoffwechselveränderungen begleitet ist, bei denen man stets ein Eindringen von Na und einen Verlust von K sowie ein Darniederliegen energieliefernder Prozesse mit Störungen der grundlegenden Redoxmechanismen und wenigstens zum Teil Störungen an der Zellmembran findet, sind geläufig geworden. Normalerweise mußte man also erwarten, daß das Natrium in die Zelle einströmt und Kalium austritt, um die unterschiedlichen Konzentrationen auszugleichen. Nun besteht die Vorstellung, daß Pumpen gegen das Konzentrationsgefälle das Natrium ständig herauspumpen und infolgedessen Kalium einströmt. Studien über dieses Problem wurden von einer Reihe von Untersuchern, vornehmlich an Erythrozyten, aber auch an niederen Lebewesen durchgeführt (HOKIN; CONWAY; USSING u.a.) (7, 26, 60, 61). Wesentlich für diese Vorgänge ist, daß Sauerstoff, Magnesium, Kalium, Natrium und Adenosintriphosphorsäure in einem bestimmten Verhältnis vorliegen. Die Energiebereitstellung-ATP-Bildung- ist bei Sauerstoff- und Mg-Mangel durch fehlende Esterasen-Aktivierung, die Energieverwertung bei K-Mangel gestört. ATP entsteht durch Phosphorylierung aus Adenylsäure über den Zitronensäurezyklus, wobei Mg durch seinen Einfluß auf Enzyme und Fermente als Katalysator wirkt. Die Anwesenheit von Mg ist für die Umwandlung von Adenylsäure zu Adenosintriphosphorsäure unbedingt erforderlich.

Das Phänomen des Aufrechterhaltens zwischen intra- und extrazellulären Elektrolytkonzentrationen, bzw. ihr Austausch werden als aktiver

Transport bezeichnet. Für diesen echten Membrantransport gegen das Konzentrationsgefälle diskutiert WILBRANDT (65, 66) einen "carrier" - Mechanismus. Zur Zeit herrscht die Vorstellung, daß das zu transportierende Substrat sich vorübergehend mit einem Bestandteil der Membran verbindet - dem sogenannten "carrier" - und daß diese "Verbindung" die Membran passiert und auf der anderen Seite sich trennt, so daß das entsprechende Kation wieder freigegeben wird. Das Transportgut durchdringt die Membran nicht frei, sondern auf Grund einer passageren Verbindung. Während das Verhalten ausreichend von vielen Autoren (4, 7, 9, 10, 18, 19, 21, 27, 53 - 56, 60, 61) untersucht wurde, besteht über den eigentlichen Träger noch keine Klarheit. WILBRANDT (65, 66) nimmt an, daß wahrscheinlich ein Lipoid, bzw. eine Phosphatidsäure oder deren Derivate hierfür in Frage kämen.

Die Elektrolytstörungen, sie bestehen in einem Kalium-Verlust der Zelle und in einem Eindringen von Natrium in die Zelle des geschädigten Gewebes, sind besonders beim Myocardinfarkt von großer Bedeutung (ISERI, 28). Für die Genese dieser Erkrankung werden heute Freisetzung von Fermenten, Elektrolytstörungen und Störungen in der Energieversorgung angenommen. ISERI und Mitarbeiter (1952) haben auf diesem Gebiet wichtige Arbeiten veröffentlicht (28): Es zeigte sich, daß eine deutliche Verminderung (etwa 50 %) der Kalium- und Magnesium-Ionenkonzentration und eine Erhöhung der Na- und Cl- Ionenkonzentration im Bereich des Infarktes stattfinden.

HARRIS 1954 (21) zeigte beim Hund, daß der Kaliumgehalt in der zentralen Zone des Infarkts bis auf 80 % abgesunken war. KENZIGER, RUSSEL, JENNINGS und Mitarbeiter (30) wiesen ebenfalls Veränderungen in der Verteilung der K-Ionen nach.

HERLES und DAUM (1957) (24) lieferten noch deutlichere Ergebnisse und unterstrichen die K-Verarmung in den Zellen des infarzierten

Gewebes. Mit dem Problem der Behandlung dieser Erkrankung haben sich vor allem WEBER und LABORIT (34, 62) beschäftigt. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Zeichen eines Herzinfarktes im EKG, die man bei der Unterbindung der Coronargefäße bei Kaninchen erhielt, verschwanden, wenn man eine repolarisierende Flüssigkeit infundierte, die in diesem Fall aus Kalium und Magnesium-Asparaginat bestand. Dadurch erreichte man eine Erleichterung der Repolarisation der Zelle, die während der Schädigung depolarisiert wurde.

Im allgemeinen betrachtet man den Myocardinfarkt auf Grund seiner klinischen, elektrokardiographischen und pathologischen Erscheinungen als eine akute Coronarthrombose mit nachfolgender Myocardnekrose. Dieses Ereignis findet in den allermeisten Fällen an atheromatös veränderten Coronarien statt. Daher wird es verständlich, wenn die therapeutischen Bemühungen sich bis heute meistens nur gegen die Coronarsklerosen und gegen die Gerinnungsstörungen richten. Es ist aber besonders fruchtbar die Stoffwechselstörungen bei einem Myocardinfarkt zu studieren, denn es spielt sich tatsächlich eine akute Stoffwechselkatastrophe im Myokard ab. Es war daher naheliegend zu folgern, daß eine derartige Wirkung auch auf die Membran der Erythrocyten anzunehmen sei.

Kalium und Magnesium liegen in Form einer sogenannten Elektrolytschlepperverbindung vor, die mit hoher Aktivität in die Zelle eindringt, dort metabolisiert wird und die vorher komplexgebundenen Kationen freisetzt. Die Asparaginsäure bewirkt den Transport von Kalium und Magnesium in die Zelle und fördert darüber hinaus die Bildung energiereicher Substrate aus dem Citronensäurecyclus und trägt somit zur Aufrechterhaltung oxydativer Prozesse im Intermediärstoffwechsel bei. Nach HELNZ (23) ist bekannt, daß sowohl Asparaginsäure wie Asparagin aktiv transportiert werden.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es zu klären, ob die oben-  
genannte Verbindung in Abhängigkeit von der Konzentration in der  
Lage ist, den Kalium - Natriumaustausch zwischen Erythrozyten  
und umgebender Flüssigkeit zu beeinflussen. Dabei galt das Augen-  
merk hauptsächlich dem Kalium, da es das wichtigste Kation der  
Zelle darstellt.

## II. ALLGEMEINES UND BIOCHEMIE

### ÜBER DIE ASPARAGINSÄURE UND IHRE SALZE

#### I. Allgemeines über die Asp und ihre Salze

Die Asp hat ihren Namen von einem schon vorher bekannten Amid, dem Asparagin, das ROBIQUET (49) im Jahre 1806 im Spargelsaft entdeckte, das dann von PLISSON (42) isoliert und von DESSAIGNES (8) synthetisiert wurde. Sie wurde ebenfalls bei der Hydrolyse pflanzlicher (RITTHAUSEN, 45) und tierischer (KEUSSLER, 32) Proteine gefunden. Heute weiß man, daß sie zu den quantitativen bedeutendsten Bestandteilen der Eiweiße gehört. Weitverbreitet kommt sie in der Natur vor (z.B. Latex).

#### II. Biochemischer Überblick

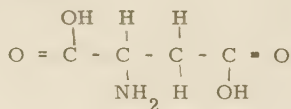
##### 1. Physiko - chemische Charakteristik

Asp ist eine Monoaminocarbonsäure vom Molekulargewicht 133,07 und die 10,35 % Stickstoff enthält. Sie hat einen deutlich saueren Geschmack im Gegensatz zu den anderen Aminosäuren, die eher süßlich oder fade schmecken. Sie bildet blättchenförmige, orthorhombische Kristalle.

a) Löslichkeit: schwach, ungefähr 0,5 % in Wasser von 25 Grad.

Diese Besonderheit läßt eine therapeutische Verwendung der Säure von vornherein unmöglich erscheinen, dazu muß man ihre Salze verwenden.

b) Chemische Struktur:



Sie unterscheidet sich von der Bernsteinsäure nur durch die Substitution eines H-Atoms durch eine Aminogruppe. Das  $\alpha$ -C-Atom ist wie bei den meisten Aminosäuren asymmetrisch und ist für die Ausbildung zweier Stereoisomere verantwortlich.

Die L-Form ist das natürlich vorkommende Stereoisomere, die D-Form kommt in der Natur nicht vor.

#### c) Dissoziation:

Die Asp hat drei ionisierbare Gruppen: In  $\alpha$ -Stellung die Amino- und Carboxylgruppe. In  $\beta$ -Stellung die zweite Carboxylgruppe. Bei 25 Grad liegen die Dissoziationskonstanten nach JAVILLIERS und POLONOVSKI (43) bei

$\alpha$  - COOH  $P_{k1} = 1,88$

$\beta$  - COOH  $P_{k2} = 3,65$

$\alpha$  - NH<sub>2</sub>  $P_{k3} = 9,65$

Damit steht sie mit an der Spitze der sauren Aminosäuren, ihr isoelektrischer Punkt liegt bei  $pH = 2,77$ .

### III. Synthese

Die Synthese der Asp ist relativ leicht. PIRIA erhielt sie 1848 durch Hydrolyse von Asparagin, das als Metabolit des N-Wechsels bei Pflanzen eine große Rolle spielt. Heute sind mehrere Modifikationen von relativ einfachen Darstellungsverfahren möglich.

Z. B. - Aethylfumarat : kann durch Ammoniak aminiert werden  
- an  $\alpha$ -Halogen oder  $\alpha$ -Ketosäuren (bes. Oxalacetat) wird eine Substitution mit NH<sub>3</sub> durchgeführt.

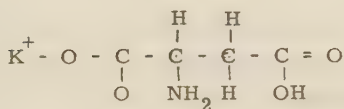
Die von uns benutzten Asparaginate:

Im Abschnitt über die physikochemischen Eigenschaften wurde fest-

gestellt, daß das Haupthindernis bei der therapeutischen Anwendung der Asparaginsäure ihre schlechte Löslichkeit ist. In der Pharmakologie werden daher ihre Salze und zwar hauptsächlich die K- und Mg-Salze benutzt.

## 1. Das K - Salz

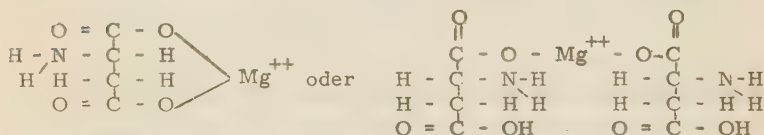
Die Carboxylgruppe in  $\beta$ -Stellung besitzt ein K - Ion



Molekulargewicht für K - Asparaginat: 171,20 dazu im wasserfreien Pulver 20 % Kalium.

## 2. Das Mg - Salz

Wahrscheinliche Formel:



Es ist ebenfalls ein weißliches, hygroskopisches Pulver von leicht bitterem Geschmack. Molekulargewicht 155,12 (15,7 % davon Mg).

Die von uns benützten Ampullen enthalten in 10 ml:

500 mg Kalium-D, L-asparaginat enthält 103,3 mg  $\text{K}^+$

500 mg Magnesium-D, L-asparaginat enthält 33,7 mg  $\text{Mg}^{++}$

Das in Deutschland eingeführte K-Mg-Asparaginat = Trommcardin<sup>R</sup> enthält die Asparaginate im Verhältnis 1:1.

### III. METHODIK

Die Untersuchungen erstrecken sich auf Erythrozytenkonzentrate, die aus Blutkonserven hergestellt wurden und mit Ringerlösung im Verhältnis 1:1 aufgeschwemmt wurden. Ein Teil des Blutes wurde mit EPL-Substanz in wechselnder Konzentration ersetzt. Zunächst wurden diese Ansätze 5 Tage im Kühlschrank aufbewahrt und alle 24 Stunden hinsichtlich des Kaliums und der ATP untersucht. Anschließend wurden sie in ein Wasserbad von 37° C gebracht und in 12-stündigem Abstand über eine Zeit von 36 Stunden untersucht. Nach Zusatz von verschiedenen Mengen an K-Mg-Asparaginat wurden in einer weiteren Untersuchungsreihe die Konserven 2 Tage im Eisschrank belassen und die nächste Messung nach 48 Stunden durchgeführt. Nach Verbringen der Suspensionen in ein Wasserbad von 37° wurden wiederum 36 Stunden lang alle 12 Stunden Messungen durchgeführt.

Nun wurde bei 10 Patienten, die keine Erkrankungen des Myocardinfarktes aufwiesen, nüchtern Blut entnommen und Bestimmungen an K und ATP durchgeführt. Ein Teil dieses Blutes (30 ml) wurde mit Heparin (Substanz) versetzt, um weitere Untersuchungen durchzuführen. Gleichzeitig wurde 1 Ampulle Trommcardin (500 mg Kalium-D, L-Asparaginat und 500 mg Magnesium-D, L-Asparaginat) injiziert. Nach einer Zeit von 2 Stunden - einem Zeitpunkt, nach dem der Erfahrung gemäß eine Senkung der Fettsäure-Ester im Blut eintritt - wurde wiederum Blut für die obengenannten Analysen entnommen (JUCHEMS und GROSS, 29). Die mit Heparin versetzten Blutproben wurden den vorgenannten Analysen unterworfen und 3 Tage im Kühlschrank aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden Messungen an

Kalium und ATP durchgeführt. Daraufhin wurden die Proben in einem Wasserbad von 37 Grad inkubiert und Messungen nach 4 und 8 Stunden durchgeführt.

In einer weiteren Serie wurden wiederum bei 10 Patienten nach der vorhergegangenen Anordnung Untersuchungen durchgeführt. Jedoch wurde nun den mit Heparin versetzten Blutproben noch Glukose zugesetzt und den vorhergenannten Analysen unterworfen, 3 Tage im Kühlschrank aufbewahrt und danach Messungen an Kalium und ATP durchgeführt. Anschließend wurden die Proben in ein Wasserbad von 37 Grad inkubiert und nach 4 und 8 Stunden Messungen durchgeführt.

#### Herstellung des Erythrozytenkonzentrates:

Erythrozytenkonzentrat wird im Verhältnis 1:1 mit Ringerlösung aufgeschwemmt (50 ml Erykonzentrat und 50 ml Ringerlösung). Insgesamt werden 5 verschiedene Konzentrationen an K-Mg-Asparaginat zugesetzt. Von der käuflichen Lösung (Trommcardin) werden 0, 2; 0, 4; 0, 8; 1, 6 und 2, 4 ml zugesetzt. Im Vergleich hierzu wurden 2 Leerwerte untersucht. Die angegebenen Mengen in ml entsprechen 0, 1 g EPL/pro 1000 ml. Die übrigen Werte verhalten sich analog hierzu. Die Konzentrationen an EPL wurden auf Grund des bekannten therapeutischen Verhaltens des Präparates gewählt, die bei der klinischen Anwendung bei ca. 0, 4 bis 0, 8 g/1000 ml liegt.

#### 1. Bestimmung der Elektrolyte.

##### a. Herstellung der Eichlösungen:

Bei der vorliegenden Arbeit wurden benutzt:

Eichlösungen für die Serumanalysen.

Hierbei handelt es sich um einen durch den Fachhandel beziehbaren "Standard", der in 1000 ml enthält:

Ca: 100 mg (5,0 mval/l)

K: 150 mg (3,84 mval/l)

Na: 3300 mg (143,5 mval/l)

Dieser "Standard" wurde dann für die Kalium-Bestimmung 1:20, und für die Natrium-Bestimmung 1:200 verdünnt.

Die gleichen Eichlösungen wurden bei den Vollblutanalysen benutzt.

Mit diesen Eichlösungen wurde das Flammenphotometer "Eppendorf" vor jeder Messung so eingestellt, daß

für K : 15 mg % und

für Na : 330 mg % angezeigt wurden.

b. Bestimmung der Elektrolyte im Serum und Vollblut:

Das zu messende Blut wurde, nachdem der Inhalt der Kolben gut vermischt worden war, in ein Reagenzglas gebracht, und wie anschließend geschildert wird, vorbereitet:

für die Serumbestimmung:

des K-Gehaltes:

0,5 ml des durch 5 Min. langes Zentrifugieren bei 5000 Umdrehungen gewonnenen Serums wurden ad 10 ml mit Aq. tridest. aufgefüllt, so daß sich eine Verdünnung 1:20 ergab.

des Na-Gehaltes:

1 ml des 1:20 verdünnten Serums aufgefüllt mit Aq. tridest. ad 10 ml, so daß sich jetzt eine Verdünnung von 1:200 ergab.

für die Vollblutbestimmung des Na- und K-Gehaltes:

0,5 ml des Erythrozyten-Ringerlösungsgemisches, bzw. des Patientenblutes wurden in einem Kolben mit Aq. tridest. ad 100 ml aufgefüllt, so daß sich bei gleichzeitiger Hämolyse der Erythrozyten eine Verdünnung im Verhältnis 1:200 ergab.

Bevor ich nun mit der Analyse begann, stellte ich vor jeder Bestimmung das Flammenphotometer mit der entsprechend geeigneten, oben beschriebenen Eichlösung ein.

### c. Hämatokritbestimmung:

In eine heparinisierte Glaskapillare wurde das zu analysierende Blut aufgezogen, anschließend die Kapillare am Bunsenbrenner an einem Ende zugeschmolzen und 15 Minuten bei 10 000 Umdrehungen pro Minute in der Mikro-Hämatokritzentrifuge zentrifugiert. Mit Hilfe des HAWKSLEY-Readers ließ sich dann der Hämatokrit ablesen.

### d. Berechnung des Elektrolytgehaltes der Erythrozyten:

Sie erfolgt nach der Formel (1)

$$E_E = \left[ E_B - E_S \left( 1 - \frac{H}{100} \right) \right] \frac{100}{H} \text{ mval/l}$$

Dabei ist:

$E_E$  = Gehalt der Erythrozyten an Elektrolyt E in mval/l

$E_B$  = Gehalt des Vollblutes an Elektrolyt E in mval/l

$E_S$  = Gehalt des Serums an Elektrolyt E in mval/l

H = Hämatokrit (Vol. % Erythrozyten im Vollblut)

## 2. Bestimmung der ATP:

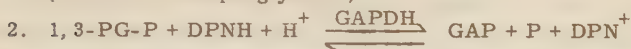
Die Bestimmung der ATP erfolgte nach der optischen Methode Warburg's. Die Messung führten wir mit einem Photometer (Photometer Eppendorf) mit vollautomatischer Registrierung bei einer Schichtdicke der Küvetten von 10 mm unter Verwendung des Absorptionsfilters für die Wellenlänge 366 m $\mu$  durch. Dies entspricht der Wellenlänge für das halbe Absorptionsmaximum der DPNH. Die Temperatur wurde während der Messung durch einen Thermostaten konstant gehalten (25° C), der mit einem heizbaren Küvettenhalter verbunden war.

Die Messung des ATP-Verbrauches erfolgte indirekt durch Verfolgung der gekoppelten DPNH/DPN<sup>+</sup> - Reaktion bei Übergang von 1,3-Diphosphoglyzerinsäure (1,3-PG-P) in Glyzerinaldehyd-3-Phosphat (GAP).

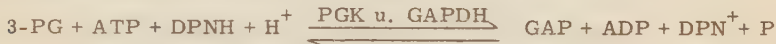
Das Enzym PGK (= Phosphoglyzerat-Kinase) katalysiert die Reaktion



(3-PG = 3-Phosphoglyzerat)



Die Gesamtgleichung lautet:



Aus dieser Gleichung geht hervor, daß der DPNH-Verbrauch ein Maß für die vorliegende ATP-Menge ist.

(DPNH = reduziertes Diphosphorpyridinnukleotid;  $\text{DPN}^+$  = oxydiertes DPNH; GAPDH = Glyzerinaldehyd-phosphat-dehydrogenase; P = anorg. Phosphat)).

#### a. Herstellung der Lösungen

- I. Reaktionsgemisch (TRA/PG = TRIÄTHANOLA MINPUFFER / PHOSPHOGLYZERAT)

0,10M TRA pH = 7,6;  $4 \times 10^{-3}$  M  $\text{MgSO}_4$   
 $6,10^{-3}$  M x 3-PG ad 50 ml aqua bidestillata

- II. Reduz. DPNH

$1,2 \times 10^{-2}$  DPNH ad 1,0 ml 1 % Natriumbicarbonatlösung.

- III. GLYZERINALDEHYDPHOSPHAT-DEHYDROGENASE/PHOSPHOGLYZERATKINASE (GAPDH/PGK)

4 mg GAPDH/ml      1 mg PGK/ml

- IV. PERCHLORSÄURE

ca. 0,6 M

5,0 ml 70 % Perchlorsäure ad 100 ml aqua bidest.

## b. Arbeitsweise

### I. ENTEIWEISSUNG:

In ein Zentrifugenglas wurden nacheinander 1 ml eiskalte Perchlorsäure (IV) und 1 ml Blut pipettiert, mit einem Plastikspatel gut gemischt und 5 Minuten bei ca. 3000 U/min zentrifugiert. Nach Temperieren auf ca. 25<sup>o</sup> C wurden 0,2 ml vom Überstand abpipettiert und zum Test eingesetzt.

### II. BESTIMMUNGSANSATZ:

In die 10 mm-Küvette wurden nacheinander pipettiert:

2,40 ml TRA/PG-Lösung (I)

0,04 ml DPNH (II)

0,20 ml Probe

mit einem Plastikspatel gut gemischt und die Extinktion ( $E_1$ ) dieses "Vorlaufes" wurde dann nach ca. 5 Min. bei 366 m $\mu$  abgelesen.

Anschließend wurden

0,04 ml GAPDH/PGK (III)

eingemischt und nach ca. 5 Min. die Extinktion abgelesen ( $E_2$ ).

Die Extinktionsdifferenz ( $E_1 - E_2$ ) geht in die Berechnung ein.

### III. BERECHNUNG

Die Reaktion verläuft unter den angegebenen Bedingungen stöchiometrisch. Eine Extinktionsdifferenz ( $E$ ) von 1,0 entspricht (gemäß dem Extinktions-Koeffizienten für DPNH) für die Messung bei 366 m $\mu$  0,03030  $\mu$ Mol DPNH/ml, somit ebenso vielen  $\mu$ Mol ATP/ml oder im Küvetteninhalt von 2,68 ml und bei 10 mm Schichtlänge: 0,0812  $\mu$ Mol ATP, was einer Menge von 41,18 Gamma/ml ATP entspricht. Um den ATP-Gehalt im ml des untersuchten Blutes zu erhalten, ist die bei der Enteiweißung eingetretene Verdünnung zu berücksichtigen. Das Blut enthält

ca. 80 % seines Gewichtes an Flüssigkeit; 1 ml Blut wiegt 1,06 g. Setzt man für 1 ml Blut = 1,06 g dann ergibt die Eiweißung  $1,06 \times 80/100 + 1 = 1,85$  ml Extrakt. Davon werden 0,2 ml zum Test eingesetzt. Die Verdünnung ist  $1,85 : 0,2 = 9,25$ . Die Umrechnung auf ATP/ml erfolgt mit dem Faktor 9,25.

Nach dieser Arbeitsvorschrift ergibt sich also für die Messung bei  $25^{\circ}\text{C}$

$$E \times 3809 = \text{Gamma ATP im ml Blut.}$$

### c. Störungen

Soweit bisher bekannt, können auf Grund der nicht absoluten Spezifität der PGK gegenüber der ATP nur größere Mengen an Triphosphaten und andere Nucleoside die Methode stören, jedoch ist die Affinität der PGK diesen gegenüber sehr gering. Solche Substanzen finden sich außerdem nur in unbedeutender Konzentration im Blut (1, 19).

## V. ANSÄTZE DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

Die Beeinflussung des Kaliums und ATPs im Blut wurde insgesamt bei 10 Blutkonserven und an 20 Versuchspersonen untersucht.

Bei dem Konservenblut handelt es sich um 5 Tage alte, lysinfreie Konserven, bei denen das Plasma abgezogen war. Das Blut war mit Natriumcitrat, dessen gerinnungshemmende Eigenschaft 1915 von LEWISOHN (37) entdeckt worden war, ungerinnbar gemacht worden.

Es handelt sich bei den Versuchspersonen um zwanzig 20 - 30 Jahre alte Männer und Frauen mit normalen Elektrolytwerten im Blut und normalem Hämatokrit.

Die Konserven wurden in zwei Gruppen unterteilt:

### Gruppe 1:

Die ersten 5 Konserven wurden, nachdem das Erykonzentrat in 6 gleiche Teile geteilt und mit Ringerlösung 50:50 gemischt worden war, in steigender Konzentration mit K-Mg-Asparaginat versetzt:

### Ringerlösung:

|                   |      |
|-------------------|------|
| NaCl              | 0,8  |
| KCl               | 0,02 |
| CaCl <sub>2</sub> | 0,02 |
| NaHC              | 0,1  |

Aqua dest. ad 100,0

Ein Ansatz wurde als Leerwert geführt. Die weiteren 5 Ansätze wurden in steigender Konzentration mit K-Mg-Asparaginat versetzt, und zwar:

Ansatz 2 : 0,2 g/1000 ml (=0,2)

Ansatz 3 : 0,4 g/1000 ml (=0,4)

Ansatz 4 : 0,8 g/1000 ml (=0,8)

Ansatz 5 : 1,6 g/1000 ml (=1,6)

Ansatz 6 : 2,4 g/1000 ml (=2,4)

Die therapeutische Breite in der klinischen Anwendung des K-Mg-Asparaginats liegt hier bei

0,4 - 0,8 g/1000 ml.

## VI. ERGEBNISSE

Um die Untersuchungsergebnisse anschaulicher zu machen, wurden die erhaltenen Werte (mval/l) in Prozent umgerechnet, wobei der Ausgangswert eines jeden Versuchs gleich 100 % gesetzt wurde.

### 1. Befunde am Konservenblut

Zur besseren Beurteilung des Effektes der K-Mg-Asparaginate wurden die zehn Konserven in zwei Gruppen geteilt (jeweils n=5). Gruppe I wurde, nachdem das Blut wie oben angegeben behandelt worden war, 5 Tage bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt. Hierbei wurden täglich Kalium und ATP bestimmt. Anschließend wurde das Blut in ein Wasserbad von 37° C gebracht. Jetzt wurden die oben genannten Bestimmungen im Abstand von 12 Stunden dreimal ausgeführt.

### Mittelwerte der ersten 5 Konserven

Kaliumgehalt der Erythrozyten in % des Ausgangswertes.

Tabelle 1

|                                                   | Leerwert | 0, 2    | 0, 4    | 0, 8    | 1, 6   | 2, 4   |
|---------------------------------------------------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|
| 1. Tag<br>4 <sup>o</sup> C                        | 100      | 100     | 100     | 100     | 100    | 100    |
| 2. Tag<br>4 <sup>o</sup> C                        | 116, 4   | 120, 92 | 119, 3  | 100, 65 | 84, 0  | 76, 7  |
| 3. Tag<br>4 <sup>o</sup> C                        | 99, 7    | 112, 5  | 115, 9  | 88, 5   | 78, 7  | 51, 7  |
| 4. Tag<br>4 <sup>o</sup> C                        | 114, 5   | 123, 5  | 127, 7  | 96, 17  | 83, 3  | 58, 5  |
| 5. Tag<br>4 <sup>o</sup> C                        | 74, 4    | 127, 7  | 104, 7  | 79, 65  | 78, 15 | 61, 55 |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37 <sup>o</sup> C |          |         |         |         |        |        |
| nach<br>12 Std.                                   | 102, 15  | 113, 08 | 122, 67 | 90, 07  | 71, 22 | 53, 4  |
| nach<br>24 Std.                                   | 84, 2    | 110, 35 | 119, 9  | 79, 3   | 65, 43 | 50, 65 |
| nach<br>36 Std.                                   | 79, 2    | 100, 3  | 102, 3  | 63, 1   | 59, 6  | 38, 2  |

Der ATP-Gehalt des Blutes verhielt sich wie folgt:

Ausgangswert jeweils gleich 100 %.

Tabelle 2

|                                       | Leerwert | 0,2   | 0,4   | 0,8   | 1,6   | 2,4   |
|---------------------------------------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1. Tag<br>4. C                        | 100      | 100   | 100   | 100   | 100   | 100   |
| 2. Tag<br>4. C                        | 77,02    | 97,0  | 87,7  | 32,3  | 68,5  | 74,7  |
| 3. Tag<br>4. C                        | 47,15    | 70,6  | 58,1  | 45,3  | 44,2  | 55,95 |
| 4. Tag<br>4. C                        | 125,2    | 101,5 | 89,0  | 86,55 | 76,7  | 93,5  |
| 5. Tag<br>4. C                        | 107,3    | 89,4  | 78,6  | 78,2  | 49,8  | 95,7  |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |       |       |       |       |       |
| nach<br>12 Std.                       | 95,9     | 81,12 | 56,17 | 51,9  | 35,53 | 94,0  |
| nach<br>24 Std.                       | 68,15    | 61,45 | 47,6  | 48,6  | 34,9  | 60,5  |
| nach<br>36 Std.                       | 62,8     | 55,7  | 24,3  | 33,95 | 24,5  | 47,7  |

# Kalium im "Serum" Konserven 1 - 5

Ausgangswert jeweils gleich 100 %.

Tabelle 3

|                                       | Leerwert | 0, 2    | 0, 4   | 0, 8   | 1, 6   | 2, 4   |
|---------------------------------------|----------|---------|--------|--------|--------|--------|
| 1. Tag<br>4° C                        | 100      | 100     | 100    | 100    | 100    | 100    |
| 2. Tag<br>4° C                        | 106, 3   | 123, 90 | 111, 3 | 101, 8 | 105, 2 | 101, 2 |
| 3. Tag<br>4° C                        | 115, 0   | 125, 0  | 119, 2 | 106, 8 | 121, 0 | 102, 3 |
| 4. Tag<br>4° C                        | 136, 0   | 143, 1  | 127, 8 | 114, 4 | 121, 8 | 111, 0 |
| 5. Tag<br>4° C                        | 155, 2   | 157, 5  | 127, 8 | 129, 9 | 125, 0 | 111, 5 |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |         |        |        |        |        |
| nach<br>12 Std.                       | 172, 8   | 188, 0  | 159, 9 | 138, 3 | 136, 9 | 128, 0 |
| nach<br>24 Std.                       | 407, 0   | 243, 0  | 338, 0 | 279, 0 | 216, 0 | 183, 8 |
| nach<br>36 Std.                       | 1238, 0  | 1135, 0 | 404, 0 | 750, 0 | 558, 0 | ----   |

Die Ansätze der Konserven 6 mit 10 beließ ich nur 2 Tage bei 4° C im Kühlschrank. Die Bestimmungen führte ich nur am 1. Tag und nach 2 Tagen aus. Anschließend maß ich die einzelnen Komponenten nach Inkubation im Wasserbad wieder nach 12, 24 und 36 Stunden.

Kaliumgehalt der Erythrozyten in % :

Ausgangswert jeweils gleich 100 %

Tabelle 4

|                                             | Leerwert | 0, 2   | 0, 4  | 0, 8   | 1, 6   | 2, 4   |
|---------------------------------------------|----------|--------|-------|--------|--------|--------|
| 1. Tag<br>4° C                              | 100      | 100    | 100   | 100    | 100    | 100    |
| 2. Tag im Kühlschrank bei 4° C ohne Messung |          |        |       |        |        |        |
| 3. Tag<br>4° C                              | 98, 7    | 90, 27 | 79, 5 | 84, 05 | 82, 57 | 64, 42 |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C       |          |        |       |        |        |        |
| nach<br>12 Std.                             | 91, 1    | 82, 73 | 77, 1 | 75, 7  | 71, 3  | 60, 8  |
| nach<br>24 Std.                             | 89, 8    | 83, 2  | 80, 3 | 79, 9  | 83, 73 | 75, 7  |
| nach<br>36 Std.                             | 87, 8    | 85, 3  | 83, 8 | 82, 2  | 85, 8  | 79, 8  |

Kaliumgehalt der Konserven im Serum in % :

Tabelle 5

|                                             |        |        |     |     |     |     |
|---------------------------------------------|--------|--------|-----|-----|-----|-----|
| 1. Tag<br>4° C                              | 100    | 100    | 100 | 100 | 100 | 100 |
| 2. Tag im Kühlschrank bei 4° C ohne Messung |        |        |     |     |     |     |
| 3. Tag<br>4° C                              | 184, 5 | 272, 3 | 294 | 343 | 436 | 530 |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C       |        |        |     |     |     |     |
| nach<br>12 Std.                             | 226    | 293    | 277 | 362 | 453 | 599 |
| nach<br>24 Std.                             | 266    | 339    | 384 | 472 | 534 | 610 |

# ATP-Gehalt des Blutes:

Tabelle 6

|                                       | Leerwert | 0,2   | 0,4   | 0,8    | 1,6   | 2,4    |
|---------------------------------------|----------|-------|-------|--------|-------|--------|
| 1. Tag<br>4° C                        | 100      | 100   | 100   | 100    | 100   | 100    |
| 3. Tag<br>4° C                        | 89,9     | 99,65 | 84,15 | 54,4   | 76,16 | 53,23  |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |       |       |        |       |        |
| nach<br>12 Std.                       | 105,7    | 142,1 | 107,3 | 113,25 | 93,7  | 99,6   |
| nach<br>24 Std.                       | 93,8     | 126,5 | 103,1 | 81,06  | 111,6 | 102,07 |
| nach<br>36 Std.                       | 91,1     | 122,2 | 99,6  | 82,8   | 115,3 | 105,4  |

## 2. Befunde des Blutes der Versuchspersonen ohne Glukosezusatz.

Aus der Kubitalvene wurde den Versuchspersonen im nüchternen Zustand ca. 40 ml Blut entnommen. Gleich darauf wurden den Personen 500 mg K-Asparaginat und 500 mg Mg-Asparaginat in Form von einer Ampulle Trommcardin durch die gleiche Kanüle injiziert. Aus der Kubitalvene des anderen Armes entnahm ich nach zwei Stunden wiederum ca. 40 ml Blut. Gleich nach der Entnahme wurde das Blut heparinisiert und sofort den vorher beschriebenen Untersuchungen unterworfen.

Das Blut bewahrte ich nun im Kühlschrank bei 4° C drei Tage lang auf. Am vierten Tag führte ich erneut die geschilderten Bestimmungen durch. Hierauf brachte ich das Blut in ein Wasserbad von 37° C. Die Messungen wurden alle vier Stunden ausgeführt, um die Elektrolytverschiebungen

besser erfassen zu können. Zusätzlich wurden noch jeweils Blutzuckerbestimmungen (durch den enzymatischen Test) vorgenommen, um eine eventuelle Parallelität zwischen Kationen-Verminderung auf den Glukosegehalt festzustellen.

Kaliumgehalt der Erythrozyten in % : Ausgangswert jeweils gleich 100 %.

Tabelle 7

n = 10

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme:                     | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen 4° C:                    | 73, 15   | 75, 1                     |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 73, 5    | 83, 3                     |
| nach 8 Stunden                        | 74, 98   | 62, 3                     |
| nach 12 Stunden                       | 63, 88   | 55, 5                     |

ATP-Gehalt des Blutes in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 8

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 58, 6    | 47, 7                     |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 34, 1    | 51, 2                     |
| nach 8 Stunden                        | 30, 2    | 34, 0                     |
| nach 12 Stunden                       | 21, 45   | 32, 0                     |

Blutzuckerspiegel in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 9

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 33, 5    | 31, 6                     |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 19, 26   | 18, 2                     |
| nach 8 Stunden                        | 21, 9    | 23, 8                     |
| nach 12 Stunden                       | 19, 85   | 22, 1                     |

Kaliumgehalt des Serums in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 10

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 258      | 270                       |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 261      | 263                       |
| nach 8 Stunden                        | 259      | 257                       |
| nach 12 Stunden                       | 306      | 300                       |

### 3. Befunde des Blutes der Versuchspersonen mit Glukosezusatz.

Den Versuchspersonen wurde wieder im nüchternen Zustand aus der Kubitalvene ca. 40 ml Blut entnommen. Den Personen wurde durch dieselbe Kanüle 500 mg Kalium-Asparaginat und 500 mg Magnesium-Asparaginat in Form von 1 Ampulle Trommcardin injiziert. Nach zwei Stunden wurde wieder aus der Kubitalvene des anderen Armes ca. 40 ml Blut entnommen. Das Blut wurde sofort nach der Entnahme heparinisiert, mit 0,8 ml 40 %iger Glukoselösung versetzt und den vorher beschriebenen Untersuchungen unterworfen.

Das Blut-Glukose-Gemisch bewahrte ich im Kühlschrank bei 4° C auf und führte am 4. Tag die geschilderten Versuche durch. Anschließend verbrachte ich das Gemisch in ein Wasserbad von 37° C. Um die Elektrolytverhältnisse besser erfassen zu können, wurden alle vier Stunden die Messungen ausgeführt. Auch Blutzuckerbestimmungen wurden wieder durchgeführt, um eine eventuelle Parallelität zwischen Kationen-Verminderung auf den Glukosegehalt festzustellen.

Kaliumgehalt des Serums in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 11

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 218,7    | 253,1                     |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 220,8    | 210,57                    |
| nach 8 Stunden                        | 223,67   | 224,8                     |

Kaliumgehalt der Erythrozyten in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 11

n = 10

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen 4° C                     | 93,25    | 86,83                     |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 90,4     | 108,54                    |
| nach 8 Stunden                        | 94,1     | 84,52                     |

ATP-Gehalt des Blutes in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 12

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 52       | 41,8                      |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 62,7     | 69,1                      |
| nach 8 Stunden                        | 74,3     | 67,8                      |

Blutzuckerspiegel in % : Ausgangswert gleich 100 %.

Tabelle 13

|                                       | Leerwert | nach Injekt. von K-Mg-Asp |
|---------------------------------------|----------|---------------------------|
| Tag der Entnahme                      | 100      | 100                       |
| nach 3 Tagen                          | 107, 5   | 98                        |
| Inkubation in ein Wasserbad von 37° C |          |                           |
| nach 4 Stunden                        | 89, 7    | 87                        |
| nach 8 Stunden                        | 105, 0   | 101, 3                    |

## VII. DISKUSSION

Der Austausch von Kalium und Natrium gegen das Konzentrationsgefälle stellt eine der wichtigsten Leistungen der Zelle dar. FLYNN, MAIZELS und GLYNN (11, 16, 17, 39) nehmen eine Koppelung zwischen Natrium- und Kalium-Transport an. Denn diese Autoren fanden heraus, daß, wenn das Kalium in der Außenflüssigkeit erniedrigt ist, der Ausfluß des Natriums in den menschlichen Erythrozyten abnimmt. Davon ausgehend schlossen HARRIS (20) und MAIZELS (38), daß der Natriumausstrom und Kaliumeinstrom miteinander gekoppelt seien und wahrscheinlich den gleichen Träger benutzen. Es wurden dann von anderen Autoren ähnliche Untersuchungen an niederen Lebewesen angestellt. Die gleichen Verhältnisse lassen sich auch für die Muskulatur des Frosches und an Pferdeerythrozyten nachweisen (KEPES, KEYNES 31, 33). Normalerweise wird ein Austausch von Natrium gegen Kalium im Verhältnis 1:1 angenommen (26). Wenn Stoffwechselgifte wirksam werden, kann dieser Koppelungsmechanismus jedoch gelöst werden (5, 6). Adenosintriphosphat wird von HOKIN

und HOKIN (27) als eine Quelle der Energie für Natrium und Kaliumtransport zwischen Zellen und extrazellulärer Flüssigkeit bezeichnet. Sie stützen sich hierbei auf Untersuchungen von CALDWELL und Mitarbeitern (6), die aufzeigen konnten, daß an Nervenfasern nach Vergiftung mit Dinitrophenol oder Cyanid der Elektrolyttransport aus der Zelle unterbrochen wird und durch Zugabe von ATP wieder in Gang gebracht werden kann.

WHITTAM (63) beobachtete einen Parallelismus zwischen dem Spiegel des ATP in den Erythrozyten und der Fähigkeit Kalium in der roten Blutzelle zu akkumulieren. Bisher gelang es aber niemandem nachzuweisen, daß ATP die alleinige Energiequelle des aktiven Transports ist, um derartige Austauschvorgänge aufrechtzuerhalten.

STRAUB (57, 58, 59, 12 - 15) und seine Schule gingen bei ihren Experimenten ganz neue Wege. Im Jahre 1952 konnten sie nachweisen, daß bei Schädigung der Erythrozyten-Membran ATP aus der Zelle verschwindet und sich auch in der umgebenden Lösung nicht nachweisen läßt. Sie schlossen daraus, daß sich bei geänderter Struktur der Zellmembran eine ATP-ase bilde, bzw. aktiviert werde, deren Wirkungsmechanismus von der Struktur der Membran der roten Blutkörperchen abhängig sei. Erst bei einer Membranschädigung werde dieses Enzym frei. In weiteren Untersuchungen gelang es den obengenannten Autoren, eine reversible Hämolyse der Erythrozyten durchzuführen. Nach Wiederherstellung der Isotonie gewannen sie dann Zellen, die sich in mehreren Hinsichten wie normale Zellen verhielten; diese Erythrozyten bezeichneten die Autoren als revertierte Zellen. Diese Blutkörperchen besaßen die Eigenschaft für Kalium-Ionen, anorganisches Phosphat, ATP sowie andere Verbindungen impermeabel zu sein. Setzt man vor der Herstellung der Isotonie - also im hypotonen Zustand - Kalium zu, so verteilen sich Kalium und anorganisches Phosphat nach Herstellung der Isotonie gleichmäßig zwischen Zellen und Außenflüssigkeit. Bei Wiederherstellung der Isotonie ist dann die Zelle für Kalium und anorganische Phosphat undurchlässig. Bei dieser auf osmotischem Wege erfolgten Hämolyse

lyse werde, nach Meinung der Autoren, eine Schädigung der Membranstruktur vermieden, oder eine wesentliche Änderung des ATP-Stoffwechsels trete nicht ein. Bei einer derart hergestellten Hämolyse nimmt der ATP-Gehalt ab; bei Hämolyse, durch Einfrieren der Erythrozyten, kommt es dagegen zu strukturellen Änderungen der Zellmembran, auf Grund dessen eine Aktivitätsänderung der ATP-ase anzunehmen sei. Auf Grund dieser Untersuchungen kommen die Autoren zu der Ansicht, daß bei normalen Erythrozyten eine ATP-ase-Aktivität nicht anzunehmen sei. Mit dieser Methode gelingt es nun natriumhaltige Erythrozyten zu gewinnen, die dann in der Lage sind, Kalium gegen Natrium auszutauschen und infolgedessen auch ihren Normalelektrolytzustand wieder zu gewinnen. Setzt man solchen hypotonen Erythrozyten ATP zu, so kommt es - nach Beendigung der Hämolyse, d.h. nach Herstellung der Isotonie - zu einer Anreicherung des ATP's in den roten Zellen. So konnte GARDOS (12, 13, 14) menschliche Erythrozyten herstellen, deren ATP-Gehalt das Fünf- bis Zehnfache des normalen Wertes erreichte. Auch bei Hemmung der Glykolyse der Erythrozyten durch Natriumfluorid konnte dieses Phänomen beobachtet werden. Daraus folgerte man, daß Kalium solange in den Erythrozyten angesammelt werde, wie ATP dort vorhanden sei. Im Jahre 1956 berichtete PRÁGAY (46) aus dem gleichen Arbeitskreis, daß zur Akkumulation von Kalium auch Magnesium vorhanden sein müsse. Dieser Mechanismus lasse sich durch EDTA (Äthylendiamintetraessigsäure) hemmen (vgl. PASSOW, 41). Zusammenfassend ergibt sich, daß die Kaliumakkumulation in den Erythrozyten mit einem Verbrauch an ATP in den roten Blutzellen parallel geht.

Nach PONDER und HARRIS (44, 22) wird der Stoffwechsel der Erythrozyten durch Temperatursenkung vermindert. Bei etwa 4° C gleichen sich Kalium und Natrium eines Erythrozyten - Plasmagemisches aus, d.h. es kommt zum Kaliumverlust und zur Natriumaufnahme. Nach Wiedererwärmen dieses Gemisches geht die Erscheinung zurück, insbesondere wenn entsprechende Substrate zugesetzt werden. Somit wan-

dern dann Natrium und Kalium-Ionen entgegen ihrem Konzentrationsgefälle. Bei den reifen, kernlosen Erythrozyten vollziehen anaerobe Stoffwechselvorgänge den geschilderten Umsatz der Ionen. Hierbei entsteht Milchsäure als Stoffwechselprodukt. Gibt man also in die Außenlösung der Erythrozytensuspensionen Kalium, so kommt es zur erhöhten Kaliumaufnahme. Je höher die Kaliumkonzentration außen ist, um so schneller steigt die Kaliumkonzentration innen an. Bei hohen Kaliumkonzentrationen innen verringert sich schließlich diese Aufnahme. Hierbei muß angenommen werden, daß nicht nur aktive Transportvorgänge eine Rolle spielen, sondern auch eine passive Ionenwanderung mitwirkt, was in ähnlicher Weise auch für den Natriumtransport zutrifft: Ist also der Natriumionenstrom von der Kaliumkonzentration der Außenlösung unabhängig, so wird der aktive Natriumtransport durch Kaliumionen aktiviert. Bei vollständigem Fehlen von Kaliumionen in der Außenlösung kann selbst in Gegenwart von ATP kein aktiver Natriumtransport erfolgen. STRAUB und Mitarbeiter (57, 58, 59) nehmen an, daß der aktive Transport in die Zelle auf Kosten des Abbaus von energiereichem Phosphat der Zellmembran vor sich geht. HOFFMAN (1960) (25) konnte nachweisen, daß als geeignetes Substrat lediglich ATP in Frage komme; die anderen Nucleotide seien hierzu nicht fähig. Aus Untersuchungen von PASSOW (41) geht hervor, daß bei der Bleivergiftung sowohl die Kaliumpermeabilität als auch der Zellstoffwechsel gestört wird. Zunächst beginnt ohne Latenzzeit ein Kaliumverlust der Erythrozyten, der dem ATP-Zerfall der roten Blutzelle vorausgeht, so daß zwei unabhängige Mechanismen faßbar werden. WHITTAM (63) untersuchte Transportvorgänge an menschlichen Erythrozyten mit radioaktivem Kalium  $K^{42}$ . Er führt aus, daß die Menge des ATP der roten Blutzelle in weiten Grenzen schwankt. Im Vergleich dazu sei der Kaliumgehalt in den roten Blutzellen verhältnismäßig konstant gewesen. Nach Inkubation dieser Zellen von  $37^{\circ}C$  kam es zum Abfall von Kalium und ATP in den Zellen nach einer Zeit von 5 Stunden. Bewahrte er dagegen seine Zellen für eine Dauer von 5 Tagen zunächst bei  $4^{\circ}C$  auf, so ließ

sich ebenfalls eine Verminderung von Kalium und ATP in den Zellen nachweisen. Wurden die Zellen daraufhin in ein Medium von  $37^{\circ}\text{C}$  überführt, so kam es zum Einstrom von Kalium und zum Anstieg von ATP. WHITTAM (63) folgerte daraus, daß ein KaliumEinstrom mit einer Vermehrung von ATP einhergehen müsse, während ein Ausstrom mit einer Verminderung an ATP gekoppelt sei.

War dies in einer glukosehaltigen Lösung der Fall, so trat bei Versuchen in einem glukosefreien Medium folgendes auf: Der Kalium-Einstrom ging in dem gleichen Maße, wie die ATP-Konzentration abfiel, zurück. Setzte man dagegen Glukose zu, so strömte Kalium in geringem Maße in die Zelle ein, bei einem ebenfalls geringen ATP-Abfall. Bei diesen Versuchen findet sich also eine Parallelität, wie sie schon vorher GARDOS, STRAUB u.a. (14, 57) aufgezeigt hatten.

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen der Konserven kam es in der Kälte zu einem Abfall und in der Wärme zu einem Anstieg der Kaliumionen in den Erythrozyten.

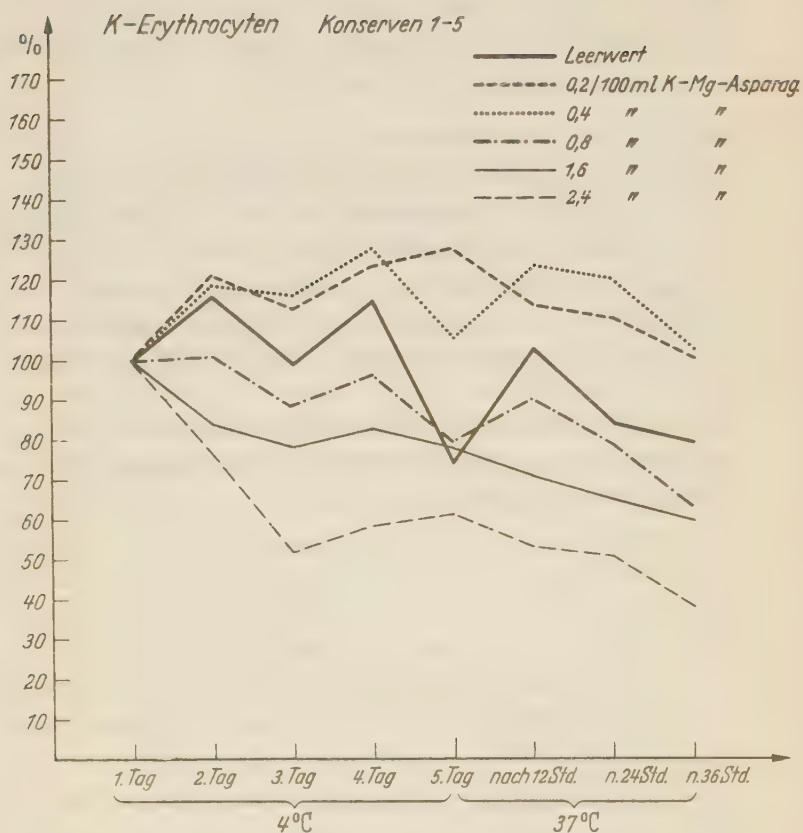


Abb. 1: K in den Erythrozyten eines Erythrozyten-Ringer-Gemisches. (1:1) und nach Zusatz von K-Mg-Asparaginat in einer Konzentration von 0, 2; 0, 4; 0, 8; 1, 6 und 2, 4 ml pro 100 ml Gemisch.

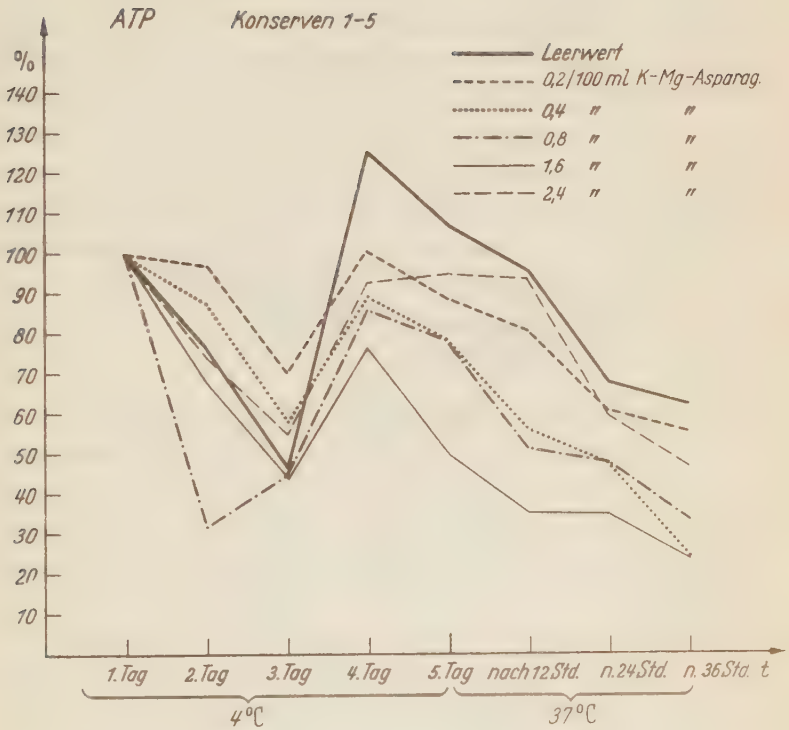


Abb. 2: Das Verhalten der ATP nach Zusatz von K-Mg - Asparaginat (vgl. Abb. 1)

Die erste Abbildung zeigt eine Verminderung des Kaliumausstromes in Abhängigkeit von einer Erhöhung der Konzentrationsstärke. Nach Verbringen der Konserven in ein Wasserbad von  $37^{\circ}\text{C}$  ist ein Kalium-einstrom bei den Werten 0,4 und 0,8, während bei den anderen Konzentrationen ein weiterer Kaliumausstrom zu sehen ist (Abb. 1). Vergleicht man dazu den ATP-Gehalt (Abb. 2), so finden wir unabhängig von der Temperatur ein geringes Ansteigen der ATP nur bei der höchsten Konzentration, sonst einen den Konzentrationen entsprechenden Abfall. Nach Verbringen in die Wärme fällt der ATP-Gehalt weiter ab. Es muß gesagt werden, daß wir gegenüber den Ergebnissen, wie sie in Abbildung 1 und 2 aufgetragen sind, keine Korrelation zwischen Kalium und ATP finden konnten, was wohl durch die verlängerte Aufbewahrung der Konserven bei  $4^{\circ}\text{C}$  bedingt war. Jedoch ist auch dort Abb. 1 bis zum dritten Tag ein stetiger Abfall der Kaliumionen in den Erythrozyten zu beobachten.

Im zweiten Versuchsansatz wurden die Konserven im Zeitpunkt 0 und nach 48 Stunden gemessen, da nach Abb. 1 ein Maximum des Kaliumausstroms festzustellen war. Hierbei kam es in der Kälte zu einer besseren Differenzierung der Linien. Der Kaliumausstrom in der Kälte bei  $4^{\circ}\text{C}$  zeigt eine Verminderung des Ausstroms der niederen Konzentrationsstärke und eine stetige Erhöhung des Ausstroms bis zur höchsten Konzentration von 2,4, was in Abb. 3 gut zu sehen ist. Nach Verbringung der Konserven in ein Wasserbad von  $37^{\circ}\text{C}$  zeigt sich nun in allen Konzentrationen gleichmäßig ein angedeuteter Rücktransport, der jedoch erst nach 12 Stunden einsetzt und nach 36 Stunden noch deutlich erkennbar ist (Abb. 3), während der Leerwert einen stetigen Abfall in der Kälte als auch in der Wärme zeigt. Bei diesen Konserven besteht nach der Kurvenführung der Eindruck, daß abhängig von der steigenden Konzentration von 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, und 2,4 auch ein stärkerer Rücktransport einsetzt, besonders nach 12 Stunden beginnt und bis zu 36 Stunden andauert. Dies muß wohl auf den Zusatz von K-Mg-Asparaginat und damit auf eine Wirkung auf den Carrier

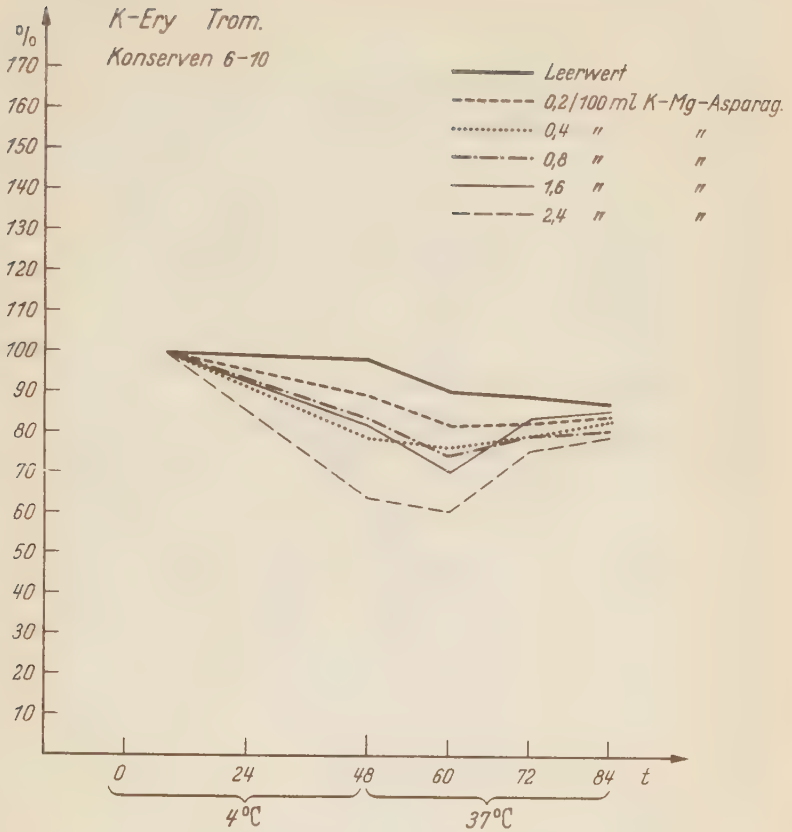


Abb. 3 : K im Erythrozyten-Ringer-Gemisch (vgl. Abb. 1)

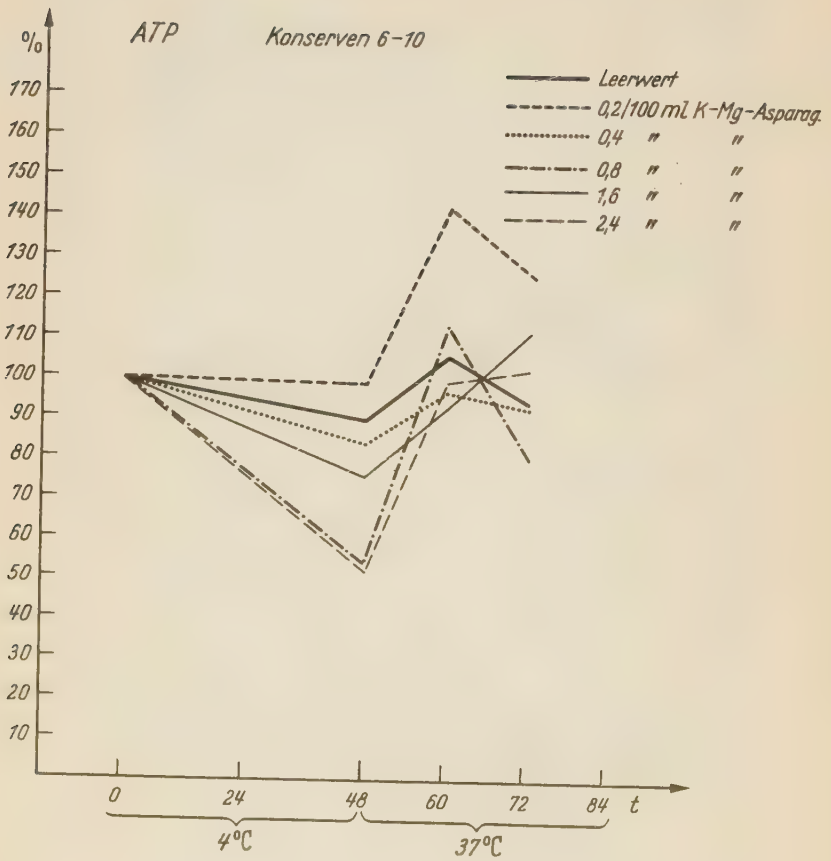


Abb. 4 : (vgl. Abb. 1 und 3) ATP-Werte

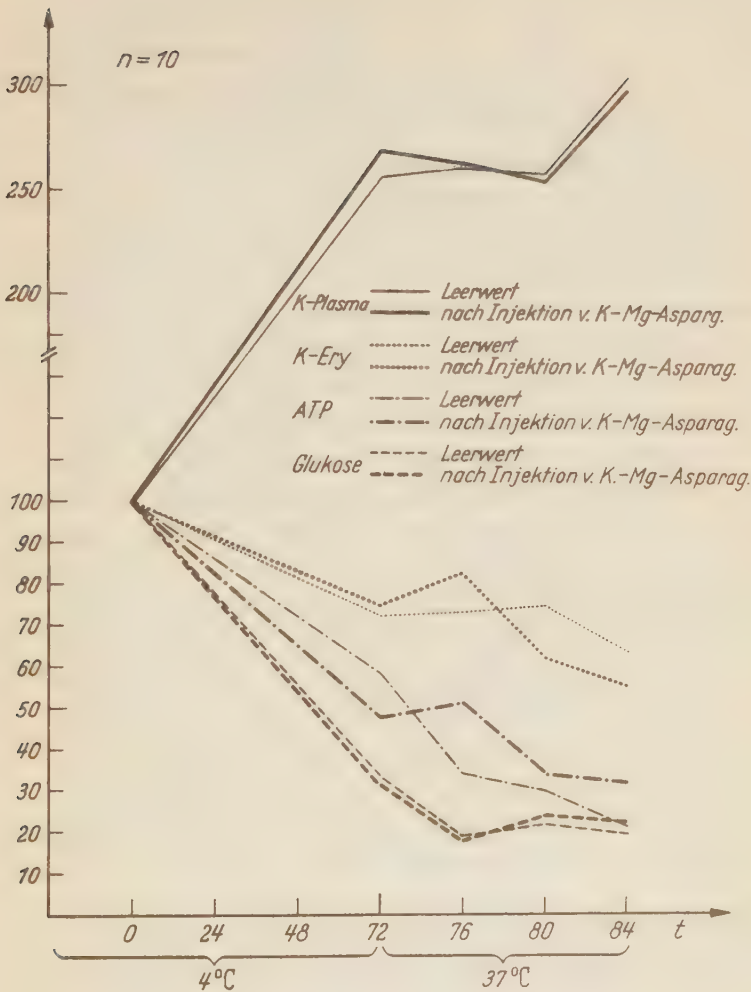


Abb. 5 : Kalium-, ATP-, Glukose- und K-Plasma-Mittelwerte, gewonnen bei 10 Probanden ohne Glukosezusatz. Es zeigt sich eine Beeinflussung des Kalium- Aus- und Rückstromes unter Einwirkung von K-Mg-Asparaginat.

bezogen werden. Auf die Auswertung der Natriumwerte in den Erythrozyten und Serum wurde verzichtet. Bereits bei der Abnahme des Blutes wird der Konserve mit dem Stabilisator Natrium zugeführt, so daß hierdurch eine andere Ionenkonzentration besteht. Außerdem wurden die K-Serumwerte in der graphischen Darstellung nicht berücksichtigt, da durch die Zugabe von K-Mg-Asparaginat unphysiologisch hohe Kaliumkonzentrationen im Serum zustande kamen. Vergleicht man zu diesen Werten den ATP-Gehalt, so finden wir während der Aufbewahrung der Konserven vom 1. bis zum 3. Tag bei 4° C einen stetigen Abfall und zwar den Konzentrationen entsprechend (Abb. 4). Derselbe Effekt ist auch am 3. Tag beim ersten Versuchsansatz aus Abb. 2 ersichtlich. Während bei der ersten Versuchsanordnung die ATP-Werte nach Inkubation in ein Warmbad stetig abfallen, haben wir beim zweiten Versuchsansatz einen ATP-Anstieg entsprechend den Konzentrationen. Wir haben also hier eine Korrelation zwischen Kalium und ATP. Die eingesetzten Konzentrationen von K-Mg-Asparaginat lassen also einen Einfluß auf den Kaliumausstrom sowie Kalium-einstrom erkennen. Es dürfte wohl anzunehmen sein, daß der ATP-Anstieg in der Wärmephase in Korrelation mit dem Kaliumeinstrom wohl im Sinne eines energiegebundenen Transportes gedeutet werden kann, wie es bereits WHITTAM (63) beschrieben hat. Zu bemerken sei noch, daß die ATP-Werte der therapeutischen Breite 0,2, 0,4 und 0,8 nach 12 Stunden wieder etwas abfallen, während die anderen mit höherer Konzentration weiter ansteigen, was wohl durch die Konzentration von K-Mg-Asparaginat bedingt ist.

Im dritten Versuchsansatz scheint zunächst der Heparinzusatz störend zu wirken. Da jedoch der Störfaktor sowohl im Leeransatz wie im parallel untersuchten "Belastungsansatz" der gleiche war, ist logischerweise ein Ausschluß dieser Bedingung anzunehmen. Hierbei zeigte sich, daß der Kaliumausfluß unter K-Mg-Asparaginat geringgradig langsamer erfolgt, dagegen der Kaliumeinstrom um fast 10 % stärker ist als im Leerwert (Abb. 5). Somit kann eine Beeinflussung

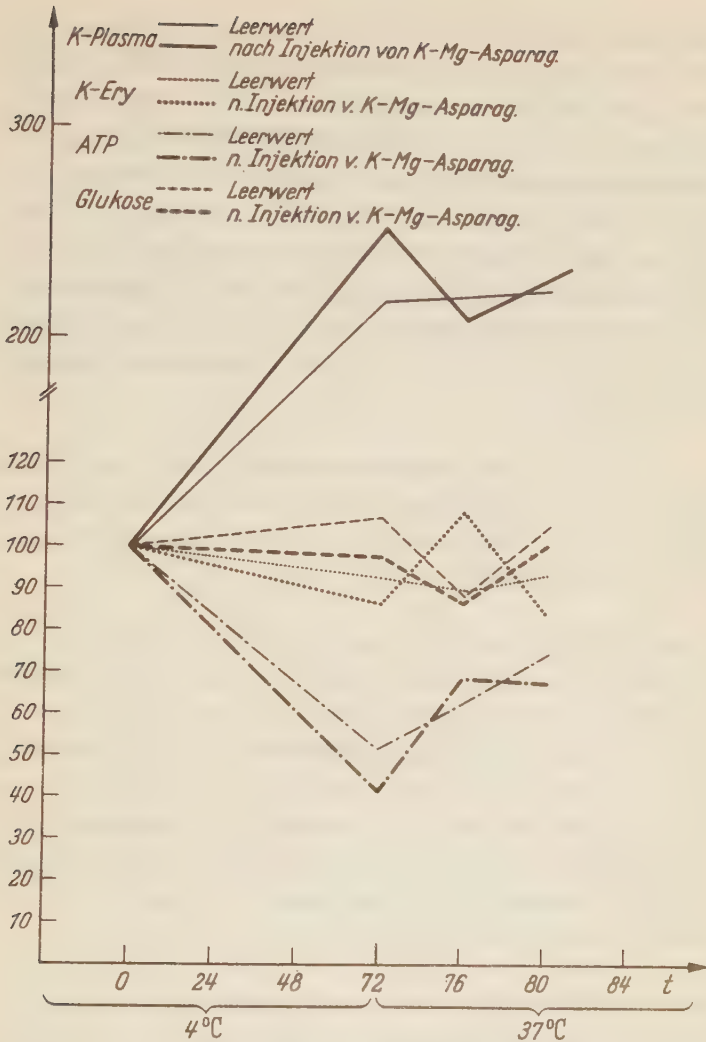


Abb. 6: Kalium-, ATP-, Glukose- und K-Plasma-Mittelwerte, gewonnen bei 10 Probanden mit Glukosezusatz. Es zeigt sich eine deutliche Beeinflussung des Kalium-Aus- und Rückstromes unter Einwirkung von K-Mg-Asparaginat.

der K-Mg-Asparaginate angenommen werden. Auch die Untersuchungen von SCHETTLER (52) erklären dieses Verhalten. Auch bei unseren Untersuchungen über das Verhalten der ATP, die einen Anstieg in der Wärmephase zeigt, (Abb. 5) darf das Phänomen wohl im Sinne eines energiegebundenen Transports gedeutet werden. Wie aus Tabelle 8 ersichtlich ist, steigt die ATP in Korrelation mit dem Kalium nach Inkubation in ein Wasserbad von  $37^{\circ}\text{C}$  an, um nach 4 Stunden ihr Maximum zu erreichen und nach 8 Stunden wieder abzufallen. Auch dieses Phänomen muß wohl wieder auf den Zusatz von K-Mg-Asparaginat und damit auf eine Wirkung im Sinne des aktiven Transports der Asparaginsäure bezogen werden.

Ob neben der ATP noch andere Energiequellen als diese zur Verfügung stehen, kann ich nicht entscheiden. Jedoch scheint, daß ein Zusatz von Glukose positiv auf den Kaliumein- bzw. Kaliumausstrom wirkt, was aus Abbildung 6 hervorgeht.

Die 4. Versuchsanordnung mit einer glukosehaltigen Lösung zeigt, daß der Kaliumausstrom unter Kalium-Magnesium-Asparaginat erhöht ist und der Kaliumeinstrom um mindestens 20 % stärker ist als im Leerwert (Abb. 6). Auch hier muß eine Beeinflussung des K-Mg-Asparagins auf die Membran angenommen werden. Entsprechend der 3. Versuchsanordnung ist hier eine jedoch verstärkte ATP-Verminderung und -Vermehrung festzustellen, die mit einem verstärkten Kaliumaus- und Kaliumeinstrom gekoppelt ist. Dieses Verhalten erklären die Untersuchungen von WHITTAM (63, 64).

Die erste Phase sämtlicher Versuchsbedingungen läßt eine Parallelität von ATP-Abfall und Kaliumausstrom erkennen. Unerklärt bleibt nur in diesem Sinne der Einstrom von Kalium in der Wärme bei gleichzeitigem ATP-Verlust der ersten Versuchsanordnung. Nur bei dieser Versuchsserie ist eine Zunahme der ATP nicht nachzuweisen. Möglicherweise ist der Effekt bei der Untersuchung des Konservenblutes teilweise auf die zu lange Aufbewahrung der Konserven bei  $4^{\circ}\text{C}$  zurückzuführen.

Bei allen anderen Versuchsanordnungen konnten wir nachweisen, daß K-Mg-Asparaginat den Ionenstoffwechsel der Erythrozyten beeinflusst und damit auf den aktiven Transport wirkt. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen im Erythrozyten-Plasma-Gemisch zeigte sich sowohl bei Konserven als auch im Frischblut der Patienten nach Zusatz von K-Mg-Asparaginat eine Parallelität des ATP-Abfalls und Kaliumausstroms bei  $4^{\circ}\text{C}$  und ein ATP-Anstieg einhergehend mit einem Kaliumeinstrom bei  $37^{\circ}\text{C}$ . Dies ist ohne weiteres im Sinne eines aktiven Transports zu deuten.

## VIII. ZUSAMMENFASSUNG

Die gegensätzlichen Konzentrationen von Kationen z. B. Kalium und Natrium in der Zelle und in der umgebenden Flüssigkeit stellen einen Grundvorgang dar, der für die Aufrechterhaltung des Lebens notwendig ist. Während man als eine Energiequelle dieses Mechanismus die ATP annimmt, besteht jedoch keine Klarheit über den "Carrier". Diese Verbindung bewirkt letztlich erst den Austausch. Es besteht die Meinung, daß dieser ein Glycerin-Ester ist. Aus diesem Grunde wurden Untersuchungen mit Asparaginatn durchgeführt.

Während der Alterung der Erythrozyten konnten wir bei den Untersuchungen eine Verminderung des Kaliumausstroms bei niederen Konzentrationen und bei der höchsten Konzentration eine Vermehrung beobachten. Eine Abhängigkeit dieses Ausstroms von der Konzentration an ATP konnte ebenfalls nachgewiesen werden.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde die Wanderung des Kaliums in der Kälte und in der Wärme im heparinisierten Blut und ferner in einer erneuten Reihe 2 Stunden nach intravenöser Injektion von K-Mg-Asparaginat nachgewiesen. Hierbei zeigte sich ein differentes Verhalten des Kaliums. Die erwähnte Verbindung beschleunigte den Ausstrom an Kalium und führte in der Wärme zu einem verstärkten Einstrom. Die ATP stand dabei in Korrelation mit dem Kalium. Somit kann geschlossen werden, daß diese Verbindung eine Wirkung auf den Kalium-Natrium-Austausch zumindest im Erythrozyten-Plasmagemisch besitzt.

In der letzten Versuchsreihe wurde die Wanderung des Kaliums in der Kälte und in der Wärme im heparinisierten Blut und in einer erneuten Reihe 2 Stunden nach intravenöser Injektion von K-Mg-Asparaginat und Zusatz von Glukose nachgewiesen. Hierbei zeigte sich nun ein noch stärkerer Kaliumausstrom in der Kälte und ein verstärkter Einstrom in der Wärme. Eine entsprechende Verminderung und Vermehrung der ATP konnten wir auch hier nachweisen. Hieraus muß weiter geschlossen werden, daß ein Glukosezusatz positiv auf den Kaliumein- und Kaliumausstrom und somit auf das Trägersystem wirkt.

Auf Grund dieser Untersuchungen kann auch auf eine Wirkung auf die übrigen Körperzellen geschlossen werden.



,

Herrn Professor Dr. med. H. Franke danke ich aufrichtig für die Überlassung des Arbeitsplatzes an seiner Klinik, wodurch diese Arbeit erst ermöglicht wurde.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. W. Gross möchte ich besonders danken für die Überlassung des Themas und die vielseitigen Anregungen und Ratschläge bei den experimentellen Untersuchungen. Er hat durch seine große Diskussionsbereitschaft, durch wichtige Hinweise bei der kritischen Auswertung der Versuche und durch sein großes Verständnis entscheidend zur Entstehung dieser Arbeit beigetragen.



## IX. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, H.: Adenosin-5 -diphosphat und Adenosin-5 - monophosphat Adenosin-5 -triphosphat-Bestimmung mit Phosphoglycerat-Kinase. In: 3. S. 539 und 573
2. ALBRINK, M.J.: Triglycerides, Lipoproteins und coronary artery Disease.  
Arch.intern. Med. 109 (1962) S. 345
3. BERGMAYER, H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse, Verlag-Chemie, Weinheim/Bergstr. 1962
4. BOYLE, P.J. Potassium accumulation in muscle and  
a.E.J. CONWAY: associated changes.  
J. Physiol. 100, 1 (1941)
5. CALDWELL, P.C., The effect of injection "energy-rich" phosphate compounds on the active transport of  
A.L. HODGKIN, ions in the giant axons of loligo.  
R.D. KEYNES a. T.J. SHAW: J. Physiol. 152, 561 (1960)
6. CALDWELL, P.C.: Some aspects of the part played by phosphate compounds in the regulation of certain inorganic ions in cells. in: Regulation of the inorganic ion content of cells. Ciba Foundation Study Group No. 5 Churchill Ltd. London 1960 p. 69
7. CONWAY, E.J.: Critical energy barriers to active transport in muscle and the redox pump theory. in: Regulation of the inorganic ion content of cells. Ciba Foundation Study Group No. 5 Churchill Ltd. London 1960 p. 2

8. DESSAIGNES: Formation d'acide aspartique avec le  
bimalaté d'ammoniacue  
C.R. Acad. Sci., 30: 324 - 325
  
9. DUNHAM, E. T.  
a. J. M. GLYNN: Adenosinetriphosphatase activity and the  
active movements of alkali metal ions.  
J. Physiol. 156, 274 (1961)
  
10. ECKEL, R.E.: Potassium exchange in human erythrocytes.  
J. cell. comp. Physiol. 51, 81 (1958)
  
11. FLYNN, F.  
a. M. MAIZELS: Cation control in human erythrocytes.  
J. Physiol. 110, 301 (1949)
  
12. GARDOS, G.: Akkumulation der Kaliumionen durch  
menschliche Blutkörperchen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 6, 191 (1954)
  
13. GARDOS, G.: The permeability of human erythrocytes  
to potassium.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 10, 185  
(1956)
  
14. GARDOS, G.  
a. F.B. STRAUB: Über die Rolle der Adenosintriphosphor-  
säure (ATP) in der K-Permeabilität der  
menschlichen roten Blutkörperchen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 12, 1  
(1957)
  
15. GARZO, T.,  
A. ULLMANN,  
F.B. STRAUB: Die Adenosintriphosphatase der roten  
Blutkörperchen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 3, 513  
(1952)
  
16. GLYNN, I. M.: Ion fluxes in red cells.  
J. Physiol. 134, 278 (1956)

17. GLYNN, I.M.: The ionic permeability of the red cell membrane.  
Progr. Biophys., biophys. Chem. 8,  
241 (1957)
18. GREEN, J.W.: The separation of cation exchange and glycolysis in human red cells exposed to non-ionizing radiations.  
J. cell comp. Physiol. 47, 125 (1956)
19. HARRIS, J.E.: The influence of the metabolism of human erythrocytes on their potassium content.  
J. biol. Chem. 141, 579 (1941)
20. HARRIS, J.E.: Linkage of Na and K active Transport in human erythrocytes.  
Symp. Soc. exper. Biol. 7, 125 (1953)
21. HARRIS, J.E.: The linkage of sodium- and potassium-active transport in human erythrocytes.  
Symp. Soc. exper. Biol. 8, 228 (1954)
22. HARRIS, J.E.: The influence of the metabolism of human erythrocytes on their potassium content.  
J. biol. Chem. 141, 579 (1941)
23. HEINZ, E.: Biochemie des aktiven Transports.  
Aktiver Transport von Aminosäuren.  
Springer-Verlag-Berlin 1961
24. HERLES, E.V.  
Si DAUM, S.: Rozlonezi elektrolytu v srdecnim svalu pri infarktu myokardua koronary smeny elektrokardiogram.  
Cas. Lek. Ces., 33-34n: 1050-1060  
(1957)
25. HOFFMAN, J.F.: Physiological characteristics of human red blood cell ghosts.  
J. gen. Physiol. 42, 9 (1959)

26. HOKIN, L.E.                      Studies on the carrier function of phosphatidic acid in sodium transport.  
a. M.R. HOKIN:                      J. gen. Physiol. 44, 61 (1960)
27. HOKIN, L.E.                      Biological Transport.  
a. M.R. HOKIN:                      Ann. Rev. Biochem. 32, 553 (1963)
28. ISERI, L.T.,                      Water and electrolyte content of cardiac  
L.C. ALEXANDER,                      and skeletal muscle in heart failure  
R. MAC CAUGHEY,                      and myocardial infarction.  
A. BOYLE and                      Amer. Heart J., 43, 215 - 227 (1952)  
G. MYERS:
29. JUCHEMS, R. u.                      Zur Einwirkung von Cholinphosphatiden  
W. GROSS:                      auf die Blutlipide.  
Med. Welt (1964) 44, 2387
30. KENZIGER, H.:                      Kaliumveränderungen nach Herzinfarkt in  
Tierexperiment.  
Z. Kreisl., 43: 385
31. KEPES, A.:                      Bacterial permeases.  
in: Coll. Ges. physiol. Chemie,  
Springer-Verlag 1961
32. KEUSSLER, W.:                      Asparaginsäure als Zersetzungsprodukt  
tierischer Proteinstoffe.  
J. Prakt. Chemie, 107, 240 (1806)
33. KEYNES, R.D.:                      The mechanism of active transport of  
ions in nerve and muscle fibres.  
Coll. Ges. physiol. Chemie, Springer-  
Verlag 1961
34. LABORIT, H.:                      Le traitement des insuffisances cardio  
vasculaires et de l'infarctus du myo-  
carde par l'association insuline-glucose  
hypertonique et sels de potassium.  
Presse méd. 71: 1 - 3 (1963)

35. LÖHR, G.W., Zellstoffwechsel und Zellalterung.  
H.D. WALLER: Klin. Wachr. 37, 833 (1959)
36. LEFÈVRE, P.G.: The evidence for active transport of  
monosaccharides across the red cell  
membrane.  
Symp. Soc. exp. Biol. 8, 118 (1954)
37. LEWISON, R.: Blood Transfusion by the Citrate Method.  
Surg. Gyn. and Obs. 21, 37 (1915)
38. MAIZELS, M.: Factors in the active transport of  
cations.  
J. Physiol. 112, 59 (1951)
39. MAIZELS, M.: Cation transfer in human red cells.  
in: Membrane Transport and Metabolism,  
Symp. Prague 1960
40. NETTER, H.: Theoretische Biochemie,  
Springer-Verlag 1959
41. PASSOW, H.: Zusammenwirkungen von Membranstruk-  
tur und Zellstoffwechsel bei der Regulie-  
rung der Ionenpermeabilität roter Blut-  
körperchen.  
12. Koll. Ges. physiol. Chemie  
Springer-Verlag 1961
42. PLISSON: J. Pharm. 13, 477 (1927)
43. POLONOVSKI, H. Traité de Biochemie générale. 2 tomes,  
M. JAVILLIER: Paris, Masson, 1, 537 - 569, 578 - 587,  
(1952)
44. PONDER, E.: The rate of loss of K from human red  
cells in systems to which lysins have not  
been added.  
J. gen. Physiol. 32, 461 (1949)

45. POST, R.L.,  
C.R. MERRIT,  
C.R. KINSOLVING a.  
C.D. ALBRIGHT: Membrane adenosine triphosphatase  
as a participant in the active transport  
of sodium and potassium in the human  
erythrocyte.  
J. biol. Chem. 235, 1796 (1960)
46. PRÁGAY, D.: Über die Kaliumakkumulation "reversibel  
hämolyasierter" menschlicher Blutkörper-  
chen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 12, 9  
(1957)
47. RITTHAUSEN, H.: Über die Zersetzungsprodukte des Legumins  
und des Proteinkörpers der Lupinen und  
Mandeln beim Kochen mit Schwefelsäure.  
J. Prakt. Chem., 103 (1868)
48. ROBERTS, E. u.  
C.F. BAXTER: Neurochemistry. Ann. Rev.  
Biochem. 32, 513 (1963)
49. ROBIQUET, J.: Ann. Chim., 57, 88, (1806)
50. SCHETTLER, G.: Arteriosklerose.  
Thieme-Verlag, Stuttgart 1961
51. SCHETTLER, G.: Pharmakotherapie der coronaren Durch-  
blutungsstörungen (stoffwechselwirksame  
Substanzen).  
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 69, 599  
(1963)
52. SCHETTLER, G.: Über Wirkungen einer Cholin-1-Phospho-  
lipid-Reinstfraktion auf den Mineralhaus-  
halt des Menschen.  
Klin. Wschr. 38, 139 (1960)
53. SOLOMON, A.K.: The permeability of the human erythrocyte  
to sodium and potassium.  
J. gen. Physiol. 36, 57 (1952/53)

54. SOLOMON, A.K.: The permeability of red cells to water and ions.  
Ann. New York Acad. sci. 75, I, 175 (1958)
55. SOLOMON, A.K.: Physiology of cell membrane.  
J. gen. Physiol. 43, I (1960)
56. SOLOMON, A.K.: Ion transport in single-cell populations.  
Biophys. J. 2, 79 (1962)
57. STRAUB, F.B.: Über die Akkumulation der Kaliumionen durch menschliche Blutkörperchen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 4, 235 (1953)
58. SZÉKELY, M.  
S. MÁNYAI u.  
F.B. STRAUB: Über den Mechanismus der osmotischen Hämolyse.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 3, 571, (1952)
59. SZÉKELY, M.  
S. MÁNYAI u.  
F.B. STRAUB: Die Wirkung der Hämolyse auf den Stoffwechsel der roten Blutkörperchen beim Menschen.  
Acta physiol. Acad. Sci. Hung. 4, 31 (1953)
60. USSING, H.H. u.  
K. ZERAHN: Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin.  
Acta physiol. scand. 23, 110 (1951)
61. USSING, H.H.: Experimental evidence and biological significance of active transport.  
12. Coll. Ges. physiol-Chemie, Springer-Verlag 1961

62. WEBER, B.: Modifications des signes électrocardiographiques de l'infarctus du myocarde expérimental chez le lapin par l'injection de sels de l'acide aspartique.  
Soc. biol. 152, 431 - 436, (1958)
63. WHITTAM, R.: Potassium movements and ATP in human red cells.  
J. Physiol. 140, 479 (1958)
64. WHITTAM, R.: The asymmetrical stimulation of a membrane adenosine-triphosphatase in relation to active cation transport.  
Biochem. J. 84, 110 (1962)
65. WILBRANDT, W.: Permeabilität, aktiver Transport und Trägermechanismus.  
Dtsch. Med. Wschr. 82, 1153 (1957)
66. WILBRANDT, W.: Aktiver Transport durch Grenzflächen.  
102. Verhdlg. Naturf. Ärzte, München  
1962, Springer-Verlag Berlin 1963
67. WILBRANDT, W.: Aktiver Transport durch Grenzflächen.  
Klin. Wschr. 41, 138 (1963)

## LEBENS LAUF

Am 17. Oktober 1940 wurde ich, Horst Friedrich Hagel, wohnhaft in Schwabach, als erstes Kind des Oberlehrers Fritz Hagel und seiner Ehefrau Olga, geb. Leitner, in Schwabach geboren.

Meine Kindheit und Volksschulzeit verbrachte ich in Schwabach.

Von 1951 an besuchte ich die Adam-Kraft-Oberrealschule in Schwabach, wo ich im Juni 1961 die Reifeprüfung ablegte.

Im Winterhalbjahr 1961 studierte ich an der TH-München/Weihenstephan Brauereiwissenschaft.

Im Sommerhalbjahr 1962 begann ich dann an der Universität München das medizinische Studium und legte dort im Sommersemester 1963 die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab. Anschließend im Sommerhalbjahr 1963 setzte ich mein Medizinstudium an der Universität Würzburg fort, wo ich im Oktober 1964 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Im Wintersemester 1965/66 wechselte ich an die Universität Erlangen, wo ich im Februar 1968 das Medizinische Staatsexamen ablegte.

Seit September 1963 bin ich mit der ap. Lin. Gertrud Hagel, geb. Eiber verheiratet.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und außer der angegebenen Literatur keine weiteren Hilfsquellen benutzt habe.

Ich versichere ehrenwörtlich, daß ich bisher von keiner anderen Stelle ein Dissertationsthema zur endgültigen Bearbeitung erhalten habe.

*Horst Hagel*





OFFSETDRUCK GUGEL  
87 WÜRZBURG  
Burkarderstr. 9, Tel. 59 97 91



OFFSETDRUCK GUGEL  
87 WÜRZBURG  
Burkarderstr. 9, Tel. 59 97 91